

บทความวิจัย

การสร้างของผลิตแก๊สเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ Microaerophiles

จริยา สันติสุข^{1*} กรณ์ย์ สุทธิวราคม² อรอนงค์ พริงสุลกะ¹
อรพินท์ เจียรพงษ์³ ลีลาวดี แสงสุข³ และ อนัญญา ไตรบำรุงสุข⁴

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสร้างของผลิตแก๊ส เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ microaerophiles โดยวัดปริมาณแก๊ส O₂ และ CO₂ ที่เกิดขึ้น ด้วยวิธี gas chromatography จากนั้นทำการปรับปริมาณแก๊ส O₂ และ CO₂ ให้เท่ากับของผลิตแก๊สที่มีชื่อทางการค้าว่า Oxoid และ BBL โดยปรับให้มีปริมาณของแก๊ส O₂ อยู่ในช่วง 10-15 เปอร์เซ็นต์โดยโมล และปริมาณของแก๊ส CO₂ อยู่ในช่วง 10-18 เปอร์เซ็นต์โดยโมล เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้นกับของผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL โดยใช้เชื้อ *Campylobacter* spp. 5 สายพันธุ์ คือ *C. jejuni* ATCC 2291, *C. jejuni* DMST 21592, *C. jejuni* DMST 21638, *C. coli* DMST 17385 และ *C. fetus* DMST 21500 พบว่าของผลิตแก๊สทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ และข้อดีของการสร้างของผลิตแก๊สขึ้นเองนี้คือมีราคาถูกกว่า

คำสำคัญ: ของผลิตแก๊ส Microaerophiles, gas chromatography, *Campylobacter* spp.

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

²หน่วยงานแบคทีเรียไร้อากาศ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข

³ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

⁴ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: jariya@swu.ac.th

Production of GasPak Envelop for Culturing Microaerophiles

Jariya Sindermsuk^{*}, Karun Suthivarakom²,
Onanong Pringsulaka¹, Orrapin Cheerrapong³,
Lelavadee Saengsuk³ and Ananya Tribumrungsuk⁴

ABSTRACT

In this study, a GasPak envelop was developed for culturing microaerophiles. The generated gases, CO₂ and O₂ from the GasPak envelop were measured by gas chromatography. The average CO₂ and O₂ gas contents in the envelop were adjusted to the same level as those in the gas contents of commercial GasPak envelopes, BBL and Oxoid with O₂ and CO₂ range from 10-15% by mole and 10-18% by mole, respectively. The efficiency of our GasPak envelop was compared with the commercial GasPak envelopes by culturing 5 strains of *Campylobacter* spp., including *C. jejuni* ATCC 22291, *C. jejuni* DMST 21592, *C. jejuni* DMST 21638, *C. coli* DMST 17385 and *C. fetus* DMST 21500. The results showed that there is no statistically significant difference. Furthermore, the production cost of our GasPak envelop is comparatively low.

Keywords: GasPak envelop, microaerophiles, gas chromatography, *Campylobacter* spp.

¹Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

²Anaerobic Bacteria Section, National Institute of Health, Ministry of Health

³Department of Mathematics, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

⁴Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

^{*}Corresponding author, e-mail: jariya@swu.ac.th

บทนำ

แบคทีเรียที่ก่อโรคต่อมนุษย์ มีหลายชนิดที่ไม่สามารถขึ้นได้ถ้าเลี้ยงในบรรยากาศปกติ ดังนั้นจึงต้องมีการสร้างบรรยากาศพิเศษที่เหมาะสม ซึ่งสามารถแบ่งแบคทีเรียที่ต้องการเจริญเติบโตในบรรยากาศพิเศษออกเป็น 2 กลุ่มด้วยกัน กลุ่มแรก คือ กลุ่ม microaerophiles พวกนี้ต้องการ O_2 เล็กน้อยในการเจริญเติบโต ถ้าไม่มี O_2 เลยหรือมีเท่าบรรยากาศ (20 เปอร์เซ็นต์) เชื้อจะตายอย่างรวดเร็ว เชื้อในกลุ่มนี้ที่สำคัญทางการแพทย์มีด้วยกัน 2 genera genus แรกคือ *Helicobacter* spp. ซึ่งเชื้อใน genus นี้ โดยทั่วไปจะพบในกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตามในบางครั้งสามารถก่อให้เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารได้ [1] ส่วนอีก genus หนึ่งคือ *Campylobacter* spp. เชื้อตัวนี้ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและลำไส้อักเสบ และเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขเนื่องจากมีอุบัติการณ์มากและมักก่อให้เกิดโรคในเด็ก [2-7] เชื้อ *Campylobacter* spp. จะเข้าสู่คนโดยการรับประทานอาหาร แหล่งที่พบเชื้อนี้ได้แก่ วัว ควาย หมู แมว สุนัข โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ปีกต่างๆ เช่น เป็ด ไก่ [8-10] *Campylobacter* spp. ชนิดที่มักก่อโรคในคนมากที่สุด คือ *C. jejuni* และมีรายงานว่าในคนสูงอายุภายหลังติดเชื้อเข้าไป อาจก่อโรคอัมพาตชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Guillian Barre Syndrome [11, 12] กลุ่มที่ 2 คือกลุ่ม anaerobes แบคทีเรียในกลุ่มนี้จะมีจำนวน genera มากมาย เช่น *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Gemella* spp., *Peptococcus* spp., *Gaffkya anaerobia*, *Streptococcus morbillorum*, *Actinomyces* spp., *Eubacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Mobiluncus* spp. *Veillonella* spp. [1, 13]

การเพาะเลี้ยงเชื้อ microaerophiles และ anaerobes ในทางการแพทย์จะสามารถเลี้ยงเชื้อได้ 3 แบบ ดังนี้ [14-16]

แบบที่ 1 anaerobic glove box เป็นตู้บ่มเชื้อที่ปิดสนิท อากาศเข้าออกไม่ได้ แล้วต่อท่อกับถังแก๊สที่บรรจุแก๊สในโตรเจน ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในอัตราส่วนที่เหมาะสม

แบบที่ 2 ภาชนะทรงกระบอกที่ทำด้วยโลหะ พลาสติก หรือแก้วที่มีฝาปิดสนิท บนฝาจะมีวาล์วเพื่อต่อกับเครื่องดูดสูญญากาศ ซึ่งสามารถดูดแก๊สออกไปได้ทั้งหมด แล้วทำแทนที่ด้วยแก๊สที่ต้องการให้มีปริมาณแก๊สที่เหมาะสมจากถังแก๊ส

แบบที่ 3 การใส่ของผลิตแก๊สใส่ลงไปในโถที่มีฝาปิดสนิท ของผลิตแก๊สจะทำให้บรรยากาศภายในโถเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ microaerophiles และ anaerobes ซึ่งวิธีนี้มีค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด วิธีในการลดปริมาณแก๊ส O_2 ทำได้หลายวิธี แต่ที่นิยมใช้มี 2 วิธีการด้วยกัน คือการผลิตแก๊ส H_2 ด้วย $NaBH_4$ ซึ่งแก๊ส H_2 นี้สามารถรวมตัวกับ O_2 ในบรรยากาศแล้วกลายเป็นน้ำ และอีกวิธีหนึ่งคือใช้สารดูดซับ O_2 (oxygen absorber) เพื่อให้ได้ระดับแก๊ส O_2 เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ microaerophiles และ anaerobes สำหรับสารที่นิยมใช้เป็นตัวดูดซับ O_2 โดยมากก็จะเป็นธาตุเหล็กหรือสารที่มีองค์ประกอบของธาตุเหล็ก โดยเมื่อทำปฏิกิริยากับแก๊ส O_2 จะเปลี่ยนรูปไปเป็น ferrous hydroxide ซึ่งต่อมาจะเปลี่ยนไปเป็น hydrate oxide หรือสนิม [17]

การสร้างของผลิตแก๊สมีหลักการคือ จะต้องลดจำนวนแก๊ส O_2 ในบรรยากาศที่ 20 เปอร์เซ็นต์ ให้ลดลงจนเหมาะกับการเลี้ยงเชื้อ microaerophiles สำหรับแก๊ส CO_2 ซึ่งพบใน

บรรยากาศไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ก็จะต้องเพิ่มให้ได้มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อช่วยให้เชื้อเจริญดีขึ้น

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตของแก๊สที่สามารถทำให้บรรยากาศเหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ microaerophile โดยการสร้างของผลิตแก๊สที่ลดปริมาณแก๊ส O_2 และเพิ่มปริมาณแก๊ส CO_2 ในบรรยากาศ ให้ได้ใกล้เคียงกับของผลิตแก๊สทางการค้าที่นิยมใช้กันตามท้องตลาด ได้แก่ของผลิตแก๊สที่ใช้ชื่อทางการค้าว่า Oxoid และ BBL ทำการวิเคราะห์ปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในของผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL ด้วยวิธี gas chromatography จากนั้นจะใช้ปริมาณของ $NaBH_4$ ที่เหมาะสม เพื่อลดแก๊ส O_2 และใช้ $NaHCO_3$ ร่วมกับการดออกซาลิกหรือกรดซิตริก เพิ่มปริมาณแก๊ส CO_2 ให้ได้ใกล้เคียงกับของผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL

วิธีการทดลอง

การสร้าง anaerobic jar เพื่อวัดแก๊ส

ทำการสร้าง anaerobic jar โดยใช้โถแก้วที่มีปริมาณ 2.5 ลิตร เจาะรูให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $1\frac{1}{2}$ นิ้ว อุดด้วยจุกยาง ทำการทดสอบจนแน่ใจว่าบริเวณรอบฝาและที่เจาะรูนั้นปิดสนิททำการวัดแก๊สโดยใช้เข็มเจาะผ่านจุกยาง (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 วิธีการดูดแก๊สออกจากภาชนะ

การวัดปริมาณแก๊สจากถังแก๊สมาตรฐานและจากของผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL ด้วยวิธี gas chromatography

ทำการตรวจวัดแก๊สจากถังแก๊สมาตรฐาน (SUPELCO Scotty 14) และแก๊สที่เกิดขึ้นจาก GasPak ของ Oxoid (Oxoid Limited, England) และ BBL (Becton, Dickinson and Company, USA) ด้วยเครื่อง gas chromatograph รุ่น GC 17A (SHIMADZU, Japan) โดย

carrier gas ที่ใช้คือแก๊สฮีเลียม (He) และใช้ detector ชนิด TCD (thermal conductivity) การฉีดแต่ละครั้งจะใช้เข็มฉีดยาจุดแก๊สปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ตั้งอุณหภูมิของ column ตั้งแต่ 31-150 องศาเซลเซียส ทำการเปรียบเทียบ GasPak แต่ละชนิดกับแก๊สมาตรฐาน (standard gas) โดยแก๊สมาตรฐานที่ใช้ ประกอบด้วย H_2 4.05 เปอร์เซ็นต์โดยโมล O_2 5.07 เปอร์เซ็นต์โดยโมล N_2 5.07 เปอร์เซ็นต์โดยโมล CO_2 5.06 เปอร์เซ็นต์โดยโมล CO 5.06 เปอร์เซ็นต์โดยโมล และ CH_4 4.05 เปอร์เซ็นต์โดยโมล ในการตรวจวัดแก๊สแต่ละตัวอย่าง จะใช้เวลาอย่างน้อย 50 นาที [18-20] ทำการตรวจวัดในแต่ละตัวอย่างเป็นจำนวน 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

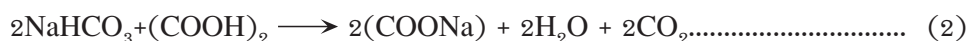
การสร้างของผลิตแก๊ส

การสร้างของผลิตแก๊สทำได้โดยการลดปริมาณแก๊ส O_2 ให้อยู่ในช่วง 10-15 เปอร์เซ็นต์ โดยการผลิตแก๊ส H_2 ด้วย $NaBH_4$ ซึ่งแก๊ส H_2 สามารถทำปฏิกิริยากับแก๊ส O_2 ใน anaerobic jar เกิดเป็นน้ำ ดังแสดงในปฏิกิริยาที่ 1



จากการคำนวณโดยอาศัยสมการทางเคมี พบว่าในการผลิตแก๊ส H_2 จาก $NaBH_4$ จะใช้ $NaBH_4$ เริ่มต้นที่ 0.6 กรัม จากนั้นวัดปริมาณแก๊ส O_2 จนกว่าจะได้ปริมาณแก๊ส O_2 ที่ลดลงใกล้เคียงกับปริมาณแก๊ส O_2 ที่วัดได้จากของผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL นอกจากนี้ทำการสร้างแก๊ส CO_2 โดยใช้ $NaHCO_3$ ทำปฏิกิริยากับกรดออกซาลิก (ก) หรือกรดซิตริก (ข) ดังแสดงในปฏิกิริยาที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ก. การผลิตแก๊ส CO_2 โดยใช้ $NaHCO_3$ กับกรดออกซาลิก $(COOH)_2$ ดังปฏิกิริยา



จากการคำนวณโดยอาศัยสมการทางเคมี พบว่าจะต้องใช้ $NaHCO_3$ เริ่มต้นที่ 1.2 กรัม และกรดออกซาลิก 0.9 กรัม จากนั้นค่อยๆ ปรับปริมาณแก๊สให้ใกล้เคียงกับปริมาณแก๊ส CO_2 ที่วัดได้จากของผลิตแก๊สที่ใช้ทางการค้า

ข. การผลิตแก๊ส CO_2 โดยใช้ $NaHCO_3$ กับกรดซิตริก $(C_3H_5O(COOH)_3)$ ดังปฏิกิริยา



จากการคำนวณโดยอาศัยสมการทางเคมี พบว่าจะต้องใช้ $NaHCO_3$ เริ่มต้นที่ 1.2 กรัม และกรดซิตริก 1.0 กรัม จากนั้นค่อยๆ ปรับปริมาณแก๊สให้ใกล้เคียงกับปริมาณแก๊ส CO_2 ที่วัดได้จากของผลิตแก๊สที่ใช้ทางการค้า เมื่อได้ปริมาณที่แน่นอนแล้ว ผสมสารที่ผลิตแก๊ส H_2 ได้เหมาะสมกับสารที่ผลิตแก๊ส CO_2 ที่เหมาะสม จากนั้นทำการวัดปริมาณแก๊ส O_2 และ CO_2 อีกครั้งด้วย gas chromatography ภายใน 60 นาที เมื่อได้แก๊ส O_2 และ CO_2 ใกล้เคียงกับของผลิตแก๊สทางการค้า แล้วนำผลที่ได้มาทำการสร้างของผลิตแก๊สต่อไป

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของช่องผลิตแก๊สที่สร้างขึ้นกับ GasPak ชนิดต่าง ๆ

ศึกษาคุณภาพของ GasPak ที่สร้างขึ้น เปรียบเทียบกับ GasPak ของ Oxoid และ BBL [21, 22] โดยวัดการเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. โดยนำเชื้อ *Campylobacter* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์มาเลี้ยงบน Brucella agar ที่ผสมเม็ดเลือดแดงและอัตราส่วนร้อยละ 5 บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้เป็นเซลล์แขวนลอยใน Brucella broth โดยให้ความเข้มข้นเชื้อเทียบกับ McFarland standard หลอด number 1 เมื่อได้ความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว นำเชื้อ *Campylobacter* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาทำการเจือจาง ลดระดับลงทีละ 10 เท่า เลือกความเจือจางที่ 10^{-3} ถึง 10^{-8} มา 0.1 มิลลิลิตร มาหยดลงบนอาหาร Brucella agar ที่ผสมเม็ดเลือดแดงและอัตราส่วนร้อยละ 5 จากนั้นทำ spreading plate technique บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ เมื่อใช้ช่องผลิตแก๊สทั้ง 3 แบบ ด้วยการนับโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ คำนวณให้อยู่ในรูป colony forming unit/ml (CFU/ml)

ผลการทดลอง

การวัดปริมาณแก๊สจากถังแก๊สมาตรฐานและจากช่องผลิตแก๊สของ Oxoid และ BBL ด้วยวิธี gas chromatography

จากการวัดปริมาณของแก๊สจากถังแก๊สมาตรฐาน ด้วยวิธี gas chromatography สามารถนำมาคำนวณปริมาณแก๊สต่างๆ โดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า retention time ค่าพื้นที่ใต้กราฟ และค่าความเข้มข้นของแก๊สมาตรฐาน

gas	retention time (min)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟ*	ปริมาณแก๊สจากถังแก๊สมาตรฐาน** (เปอร์เซ็นต์โดยโมล)
H ₂	≅ 0.7	1404	4.05
O ₂	≅ 2.7	89041	5.07
N ₂	≅ 2.9	162787	5.07
CO	≅ 4.1-4.2	66562	5.06
CH ₄	≅ 10.6	50681	5.06
CO ₂	≅ 17.2-17.5	105554	4.05

หมายเหตุ:

* ความเข้มข้นของแก๊สที่วัดได้จริงจากถังแก๊สมาตรฐาน

**ปริมาณแก๊สจากถังแก๊สที่ระบุจากบริษัทผู้ผลิต (SUPELCO Scotty 14)

จากนั้นทำการวัดปริมาณแก๊สของของผลิตแก๊ส Oxoid และ BBL ด้วยวิธี gas chromatography จากพื้นที่ใต้กราฟและ retention time สามารถคำนวณเป็นชนิดและปริมาณแก๊สได้ตามตารางที่ 2

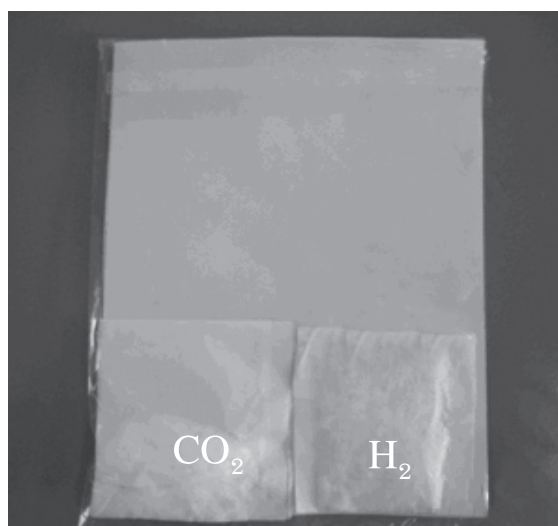
ตารางที่ 2 ปริมาณแก๊สในของผลิตแก๊สของ OXOID และ BBL ภายในเวลา 60 นาที

ของผลิตแก๊ส	ปริมาณแก๊ส H ₂ (เปอร์เซ็นต์โดยโมล)	ปริมาณแก๊ส O ₂ (เปอร์เซ็นต์โดยโมล)	ปริมาณแก๊ส CO ₂ (เปอร์เซ็นต์โดยโมล)
OXOID	-	10.34	10.28
BBL	22.51	14.61	18.89

จากการวัดแก๊สในเวลา 60 นาที พบว่าปริมาณแก๊ส O₂ จะอยู่ในช่วง 10-14 เปอร์เซ็นต์โดยโมล และแก๊ส CO₂ 10-18 เปอร์เซ็นต์โดยโมล อย่างไรก็ตามของผลิตแก๊สของ BBL จะพบแก๊ส H₂ ด้วย ดังนั้นในการสร้างของผลิตแก๊สจึงต้องให้ได้ปริมาณแก๊สใกล้เคียงกับของผลิตแก๊สที่นิยมใช้ในท้องตลาดดังกล่าว

การสร้างของผลิตแก๊ส

ทำการลดปริมาณแก๊ส O₂ โดยใช้ NaBH₄ ที่แปรผันปริมาณโดยเริ่มต้นที่ 0.20 กรัม แล้วจึงเพิ่มปริมาณขึ้น จนได้ปริมาณ O₂ อยู่ในช่วง 10-15 เปอร์เซ็นต์โดยโมล จากนั้นทำการสร้างแก๊ส CO₂ ให้อยู่ในช่วง 10-18 เปอร์เซ็นต์โดยโมล ตามของผลิตแก๊สของ OXOID และ BBL การสร้างแก๊ส CO₂ จะแปรผันปริมาณของ NaHCO₃ โดยเริ่มต้นที่ 1.2 กรัม แล้วจึงเพิ่มปริมาณขึ้น เช่นเดียวกับปริมาณกรดออกซาลิกหรือกรดซิตริก ที่แปรผันปริมาณเริ่มต้นที่ 0.9 กรัม และ 1.0 กรัม ตามลำดับ แล้วจึงเพิ่มปริมาณขึ้น ทำการปรับจำนวนสารที่จะผลิต CO₂ ให้ได้ประมาณ 10-18 เปอร์เซ็นต์โดยโมล โดยพบว่าจากการใช้ NaHCO₃ กับกรดออกซาลิก และการใช้ NaHCO₃ กับกรดซิตริก พบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน แต่ปฏิกิริยาระหว่าง NaHCO₃ กับกรดออกซาลิก จะให้ปฏิกิริยาที่รวดเร็วเกินไป เมื่อได้ปริมาณของสารที่สามารถลดปริมาณแก๊ส O₂ และสร้างแก๊ส CO₂ อยู่ในช่วงที่เทียบเท่ากับของผลิตแก๊สที่นิยมใช้ในท้องตลาด (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แล้วทำการบรรจุสารทั้ง NaBH₄ ในช่องที่ 1 และ NaHCO₃ ผสมกับกรดซิตริก ในช่องที่ 2 บรรจุของทั้งสองในช่องกระดาดที่มีขนาด 3.5 x 4.5 เซนติเมตร ใส่ในถุงพลาสติกทนความร้อน ขนาด 12 x 18 เซนติเมตร อีกชั้นหนึ่ง ปิดปากถุงให้สนิท ช่องที่ผลิตขึ้นนี้ใช้กับการเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาตรของโอเพาะเลี้ยง 2.5 ลิตร เวลาใช้งานให้เปิดน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่บริเวณข้างของผลิตแก๊สด้านที่ให้แก๊ส CO₂ แล้วรีบใส่ลงในโอเพาะเลี้ยงเชื้อทันที ภาพของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้นแสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้น

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *Campylobacter* spp. โดยใช้ GasPak ชนิดต่าง ๆ

จากการนำเชื้อ *Campylobacter* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาทำการเลี้ยงในโถเพาะเลี้ยงเชื้อ จากนั้นวางซอง GasPak ของ Oxoid, BBL และซองผลิตแก๊สที่สร้างขึ้นแล้วนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เจริญ ได้ผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. โดยใช้ GasPak ชนิดต่าง ๆ

เชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ	จำนวนแบคทีเรียต่อมิลลิลิตรเฉลี่ย (x 10 ⁶ CFU/ml)		
	Oxoid (ชนิดเติมน้ำ) ¹	BBL (ชนิดเติมน้ำ) ²	ซองผลิตแก๊สที่ สร้างขึ้น ³
<i>C. jejuni</i> ATCC 22291	4.9	13.5	84.5
<i>C. jejuni</i> DMST 21592	77.5	88	113.5
<i>C. jejuni</i> DMST 21638	198	610	640
<i>C. coli</i> DMST 17385	106	25.5	105.5
<i>C. fetus</i> DMST 21500	287	144	255.5
ค่าเฉลี่ยเชื้อ 5 สายพันธุ์	134.6	176.2	239.8

หมายเหตุ:

¹หมดยุการใช้งานในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2550

²หมดยุการใช้งานในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2550

³ผลิตเมื่อเดือนธันวาคม พ.ศ. 2548

จากการเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. ที่เลี้ยงโดยของผลิตแก๊ส 3 ชนิด และวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ Friedman test พบว่าของผลิตแก๊สของ Oxoid ของผลิตแก๊สของ BBL และของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้น ทำให้การเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. ไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้น มีค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตของจำนวนแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ มากกว่า (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 239.8×10^6 CFU/ml) ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของเชื้อจากการเพาะเลี้ยงด้วยของผลิตแก๊ส Oxoid และ BBL เท่ากับ 134.6×10^6 และ 176.2×10^6 CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นถ้าพิจารณาเฉพาะกลุ่มตัวอย่างเชื้อ 5 สายพันธุ์ จะเห็นว่าของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้นทำให้มีการเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. มากกว่าการใช้ของผลิตแก๊สของ Oxoid และของผลิตแก๊สของ BBL

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ของผลิตแก๊สที่ผลิตขึ้นสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ *Campylobacter* spp. ได้โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการใช้ของผลิตแก๊สของ Oxoid และของผลิตแก๊สของ BBL ซึ่งเป็นของผลิตแก๊สของต่างประเทศ แต่ถ้าพิจารณาเฉพาะกลุ่มตัวอย่างเชื้อ 5 สายพันธุ์ พบว่าของผลิตแก๊สที่สร้างขึ้น ทำให้การเจริญของเชื้อ *Campylobacter* spp. มีมากกว่า และเมื่อพิจารณาราคาของของผลิตแก๊สที่ผลิตขึ้น พบว่ามีราคาถูกโดยมีราคาค้นทุนเพียง 25 บาทต่อซอง เมื่อคำนวณจากค่าสารเคมีที่ใช้ในระดับ AR grade

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปี 2548 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ ดร.อัจฉริยา รังษิรุจิ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร และอาจารย์ ดร.นลินา ประไพรัชสิทธิ์ ที่ช่วยแก้ไขบทความให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Joklik, W. K., Willelt, H. P., Amos D. B. and Wilfert, C. M. 1992. Zinsser Microbiology. 20th Edition. Appleton & Lange. Norwalk, CT. p. 621-636.
2. Barnes, G. L., Uren, E., Stevens, K. B. and Bishop, R. F. 1998. Etiology of Acute Gastroenteritis in Hospitalized Children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. *Journal of Clinical Microbiology* 36(1): 133-138.
3. Coker, A. O. and Adefeso, A. O. 1994. The Changing Patterns of *Campylobacter jejuni/ coli* in Lagos, Nigeria after Ten Years. *The East African Medical Journal* 71(7): 437-440.
4. Hoque, S. S., Faruque, A. S., Mahalanabis, D. and Hasnat, A. 1994. Infectious Agents Causing Acute Watery Diarrhea in Infants and Young Children in Bangladesh and Their Public Health Implications. *Journal of Tropical Pediatrics* 40(6): 351-354.

5. Puthucheary, S. D, Parasakthi, N., Liew, S. T. and Chee, Y. W. 1994. *Campylobacter* Enteritis in Children: Clinical and Laboratory Finding in 137 Cases. *Singapore Medical Journal* 35(5): 453-456.
6. Lindblom, G. B, Ahren, C., Changalucha, J., Gabone, R., Kaijser, B., Nilsson, L. A., Sjogren, E., Svennerholm, A. M. and Temu, M. 1995. *Campylobacter jejuni* / *coli* and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in Faeces from Children and Adults in Tanzania. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 27(6): 589-593.
7. Ramino-Cruz, J., Cano, F., Bartlett, A. V. and Mendez, H. 1994. Infection, Diarrhea, and Dysentery Caused by *Shigella* Species and *Campylobacter jejuni* Among Guatemalan Rural Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 13(3): 216-223.
8. Jacobs-Reitsma, W. F, van de Giessen, A. W., Bolder, N. M, and Mulder, R. W . 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at Two Dutch Broiler Farms. *Epidemiology and Infection* 114(3): 413-421.
9. Nielsen, E. M., Engberg, J. and Madsen, M. 1997. Distribution of Serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish Patients, Poultry, Cattle and Swine. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 19(1): 47-56.
10. Stern, N. J, Clavero, M. R, Bailey, J. S., Cox, N. A. and Robach, M. C. 1995. *Campylobacter* spp. in Broilers on the Farm and After Transport. *Poultry Science* 74(6): 937-941.
11. Nachamkin, I. 1997. Microbiologic Approaches for Studying *Campylobacter* Species in Pateints with Guillain-Barre Syndrome. *Journal of Infectious Diseases* 176(2): 106-114.
12. Nishimura, M., Nukina, M., Kuroki, S., Obayashi, H., Ohta, M., Ma, J. J., Saida, T. and Uchiyama, T. 1997. Characterization of *Campylobacter jejuni* Isolates from Patients with Guillain-Barre Syndrome. *Journal of Neuroscience* 153(1): 91-99.
13. Marsh, P. and Martin, M. V. 1999. Oral Microbiology. 4th Edition. London. Reed Educational and Professional Publishing. p. 17-137.
14. Ingraham, J. L. and Ingraham, C. A. 1995. Introduction to Microbiology. USA. W.A. Wadsworth Publishing Company.
15. Lisa, A. S and Rodgers, A. T. 1999. Essentials of Diagnostic Microbiology. USA. An International Thomson Publishing Company.

16. Prescott, L., Harley, J. P. and Klein, D. A. 1993. Microbiology. 2nd Edition. USA. Wm.c. Brown Communications, Inc.
17. Howard, R., Attebery, D., Sydney, M. and Finegold, M. D. 1970. A Miniature Anaerobic Jar for Tissue Transport or for Cultivation of Anaerobes. *Miniature Jar for Anaerobes* (53): 383-388.
18. Gas Chromatograph GC-17A Ver.3 User's Manual. 1995. Kyoto. Shimadzu Corporation.
19. Robert, L. G. 1985. Modern Practice of Gas Chromatography. 2nd Edition. Singapore. John Wiley & Sonc. Inc.
20. Willett, J. E. 1991. Gas Chromatography. Singapore. John Wiley & Sonc. Inc.
21. Koneman, E. W., Allen, S. D., Schreckenberger, P. C., Janda, W. M., Winn Jr., W.C., Washington, C. and Winn Jr., M. B. A. 1988. Color Atlas and Textbook of Diagonostic Microbiology. New York. McGrew-Hill Book Company.
22. Lennette, E. H. 1985. Manual of Clinical Microbiogy. 4th Edition. Washington DC. American Society for Microbiology.

ได้รับบทความวันที่ 14 มิถุนายน 2549

ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 10 กรกฎาคม 2549